外源淀粉酶对肉鸡玉米-豆粕型饲粮体外养分消化率和代谢能的影响

张 宪[1,2] 张乐颖[2] 张立兰[1] 陈 亮[1*] 唐湘方[1] 张宏福[1]

（1.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所，动物营养学国家重点实验室，北京 100193；2. 河北工程大学生命科学与食品工程学院，邯郸 056000）

摘 要：本试验旨在利用单胃动物仿生消化系统（SDS-Ⅱ）研究外源淀粉酶对肉鸡玉米-豆粕型饲粮体外养分消化率和代谢能的影响，为准确评价饲用酶制剂的有效性提供依据。试验采用 2×4 双因素完全随机设计，参照我国《鸡饲养标准》（NY/T 33-2004）和 NRC（1994）鸡营养需要配制肉鸡 1~21 日龄和 22~42 日龄玉米-豆粕型基础饲粮，并分别在 2 种基础饲粮中添加 1 840、9 200 和 18 400 U/g 的外源淀粉酶配制 6 种添加淀粉酶的饲粮，以不添加外源淀粉酶的 2 种基础饲粮作为对照，利用 SDS-Ⅱ测定 8 种饲粮的体外干物质消化率（IVDMD）、体外表观粗蛋白质消化率（IVACPD）、体外标准化粗蛋白质消化率（IVSCPD）、体外淀粉消化率（IVSTD）、体外总能消化率（IVGED）和体外代谢能（IVME）。每种饲粮设 5 个重复，每个重复设 1 根消化管。结果表明：1）与对照组相比，1 840、9 200 和 18 400 U/g 淀粉酶组饲粮胃阶段的 IVDMD 和 IVGED 均显著增加（$P<0.05$）；18 400 U/g 淀粉酶组饲粮的 IVME 显著高于其他组（$P<0.05$）；22~42 日龄饲粮的全消化道 IVDMD、IVGED 以及 IVME 均显著高于 1~21 日龄饲粮（$P<0.05$）。2）1 840 和 9 200 U/g 淀粉酶组的全消化道 IVACPD 和 IVSCPD 均显著高于对照组（$P<0.05$），22~42 日龄饲粮的全消化道 IVACPD 和 IVSCPD 显著高于 1~21 日龄饲粮（$P<0.05$）。3）8 种饲粮的全消化道 IVSTD 均在 99.40%以上，9 200 和 18 400 U/g 淀粉酶组的全消化道 IVSTD 显著

收稿日期：2017-09-22
基金项目：中央级公益性科研院所基本科研业务费专项（2012ywf-zd-18，2012ywf-zd-23，Y2017PT42）；中国农业科学院科技创新工程（ASTIP-IAS07）
作者简介：张 宪（1992—），女，河北石家庄人，硕士研究生，研究方向为单胃动物营养。E-mail: gloriazhang92@163.com
*通信作者：陈 亮，助理研究员，E-mail: chenliang01@caas.cn

低于对照组（$P<0.05$），1~21 日龄饲粮的全消化道 IVSTD 显著高于 22~42 日龄饲粮（$P<0.05$）。4）饲粮营养水平和淀粉酶添加剂量对肉鸡饲粮 IVDMD、IVDGE、IVACPD、IVSCPD、IVSTD 和 IVME 均存在交互作用（$P<0.01$）。在本试验条件下，外源淀粉酶的添加提高了肉鸡饲粮胃阶段的 IVDMD、IVDGE，1 840 和 9 200 U/g 外源淀粉酶提高了肉鸡饲粮的 IVACPD、IVSCPD，18 400 U/g 外源淀粉酶提高了肉鸡饲粮的 IVME；玉米−豆粕型饲粮中淀粉几乎完全降解，外源淀粉酶对 IVSTD 的影响可以忽略；饲粮营养水平和外源淀粉酶添加剂量对肉鸡饲粮体外养分消化率和代谢能存在交互作用，22~42 日龄饲粮的体外养分消化率和代谢能均高于 1~21 日龄饲粮。

关键词：外源淀粉酶；单胃动物仿生消化系统；养分；消化率；代谢能

中图分类号：S816　　　　文献标识码：A　　　　文章编号：

外源酶制剂具有提高饲料养分消化率、改善动物生长性能和维持动物健康等优点，已成为饲料营养领域的研究热点之一。但外源酶制剂的效果不仅取决于其本身的酶学特性，还与目标动物的生理状况及基础饲粮类型密切相关。因此，准确评价和使用饲用酶制剂的问题亟待解决。传统的动物试验法评定饲用酶常耗费大量的人力、财力和物力，测试条件不可控性，结果变异大，不能在短时间内进行评定[1-2]。研究发现添加单一α-淀粉酶可提高饲粮的有机物消化率和淀粉消化率以及代谢能，提高肉仔鸡的日增重和饲料转化率[3-6]；但也有研究显示α-淀粉酶对肉仔鸡前期（1～14 日龄）饲粮的淀粉消化率没有促进作用[7]，对肉仔鸡的生长性能没有产生正效应[8]。外源淀粉酶的作用效果受到饲粮类型及酶制剂的来源和添加剂量等因素的影响，所得结果不尽一致。国内外学者们试图探索研究快速、易标准化的外源酶制剂有效性评价的体外法。Alabi 等[9]和 Malathi 等[10]均提出胃蛋白酶−胰液素体外法能够快速评价外源酶的有效性和稳定性。Park 等[11]研究表明含有α-外源淀粉酶的复合酶制剂增加了玉米和小麦的体外干物质消化率。虽然体外法评定外源淀粉酶的应用研究取得一定进展，但各实验室评定酶制剂的方法、试验材料及条件变异性大，导致评价外源

酶制剂有效性的方法不稳定。本课题组长期研究饲用酶制剂的有效性快速评价方法，通过仿生法评定了外源蛋白酶对饲粮养分消化率的影响[12]，建立了猪禽饲粮非淀粉多糖酶快速筛选平台，利用仿生法研究了非淀粉多糖酶的作用效果[13]。但利用体外法评价单一外源淀粉酶有效性的报道极少。本试验旨在利用单胃动物仿生消化系统（SDS-Ⅱ）模拟鸡胃阶段和全消化道的消化过程，通过研究外源淀粉酶对饲粮体外干物质消化率（*in vitro* dry matter digestibility，IVDMD）、体外总能消化率（*in vitro* gross energy digestibility，IVGED）、体外表观粗蛋白质消化率（*in vitro* apparent crude protein digestibility，IVACPD）、体外标准化粗蛋白质消化率（*in vitro* standardized crude protein digestibility，IVSCPD）、体外淀粉消化率（*in vitro* starch digestibility，IVSTD）和体外代谢能（*in vitro* metabolic energy，IVME）的影响，为准确评价和使用饲用酶制剂提供依据。

1 材料与方法

本试验于 2016 年 12 月至 2017 年 3 月在中国农业科学院北京畜牧兽医研究所动物营养学国家重点实验室进行。

1.1 试验设计

本试验采用 2×4 双因素完全随机设计。试验饲粮参照我国《鸡饲养标准》[14]（NY/T 33—2004）和 NRC（1994）[15]鸡营养需要配制肉鸡 1~21 日龄和 22~42 日龄基础饲粮。以 2 种基础饲粮为对照组，分别在 2 种基础饲粮中添加 1 840 U/g、9 200 U/g 和 18 400 U/g 的外源α-淀粉酶（α-淀粉酶由北京益农饲料中心提供，活性为 24 500 U/g，1 个淀粉酶活性单位定义为 25 ℃、pH=6.90 条件下作用 1 min 释放 1 μmol 麦芽糖所具有的酶的活性）作为试验组，共 8 个饲粮样品组，每组设 5 个重复，每个重复设 1 根消化管。饲粮样品采用四分法取样后经试验用饲料粉碎机粉碎过 60 目筛，充分混合均匀后，保存于−20 ℃备用。基础饲粮组成见表 1，试验饲粮常规营养成分含量见表 2。

表 1 基础饲粮组成（风干基础）

Table 1 Composition of basal diets (air-dry basis) %

原料 Ingredients	含量 Content	
	1~21 日龄 1 to 21 days of age	22~42 日龄 22 to 42 days of age
玉米 Corn	55.00	58.80
豆粕 Soybean meal	36.30	32.27
豆油 Soybean oil	4.15	5.00
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	1.80	1.62
食盐 NaCl	0.30	0.30
石粉 Limestone	0.90	0.67
氯化胆碱 Choline chloride	0.10	0.10
L-赖氨酸盐酸盐 *L*-Lys•HCl	0.21	0.10
DL-蛋氨酸 *DL*-Met	0.24	0.14
预混料 Premix	1.00	1.00
合计 Total	100.00	100.00

预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of diets：VA 12 000 IU，VB_1 3.5 mg，VB_2 8.6 mg，VB_{12} 0.02 mg，VD_3 25 000 IU，VE 20 IU，VK_3 32.5 mg，生物素 biotin 0.20 mg，叶酸 folic acid 1.00 mg，*D*-泛酸 *D*-pantothenic acid 15 mg，烟酸 nicotinic acid 50 mg，Cu (as copper sulfate) 8 mg，Fe (as ferrous sulfate) 80 mg，Mn (as manganese sulfate) 120 mg，Zn (as zinc sulfate) 110 mg，Se (as sodium selenite) 0.30 mg。

表 2 试验饲粮常规营养成分含量（干物质基础）

Table 2 Conventional nutritional component contents of experimental diets (DM basis)

饲粮营养水平 Dietary nutrient level	淀粉酶添加剂量 Amylase additional dose/（U/g）	常规营养成分 Conventional nutritional components								
		干物质 Dry matter/%	粗蛋白质 Crude protein/%	淀粉 Starch/%	粗脂肪 Ether extract/%	粗灰分 Ash/%	中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber/%	酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber/%	总能 Gross energy/(MJ/kg)	碳水化合物 Carbohydrate/%
1~21 日龄	0	89.48	22.73	37.01	6.63	5.46	7.22	1.86	19.10	54.67
1 to 21 days of age	1 840	89.26	22.33	38.42	6.98	5.42	7.00	1.69	19.14	54.53
	9 200	89.22	22.39	38.79	6.84	5.63	6.23	1.73	19.12	54.36
	18 400	89.22	22.29	40.17	7.40	5.42	7.50	2.08	19.20	54.12
22~42 日龄	0	90.07	21.50	42.37	8.42	5.05	7.30	1.61	19.39	55.10
22 to 42 days of age	1 840	90.01	21.46	43.88	8.73	4.70	7.69	1.95	19.51	55.12
	9 200	90.04	21.54	43.47	8.13	4.92	7.72	1.96	19.42	55.44
	18 400	90.17	21.03	42.94	8.67	4.86	8.63	1.81	19.41	55.61

1.2 试验方法

本试验采用 SDS-Ⅱ，通过配制胃缓冲液、小肠缓冲液、模拟胃液、模拟小肠液，模拟鸡胃阶段和全消化道消化过程，并对结果进行分析，从而评定外源淀粉酶对 1~21 日龄和 22~42 日龄肉鸡玉米-豆粕型基础饲粮 IVDMD、IVGED、IVACPD、IVSCPD、IVSTD 及 IVME 的影响。操作步骤及参数设置均按《单胃动物仿生消化系统操作手册》[16]进行。

1.2.1 胃缓冲液、小肠缓冲液、模拟胃液、模拟小肠液的配制

胃缓冲液及小肠缓冲液的组成见表 3。各段缓冲液的配制均用去离子水溶解，在 41 ℃下调节溶液的 pH 并定容到 2 000 mL。胃段缓冲液用 2 mol/L 盐酸调节 pH 至 2.00，小肠前段和小肠后段缓冲液均用 1 mol/L 氢氧化钠调节 pH 分别至 6.50 和 7.99。配制好的缓冲液放入 SDS-Ⅱ的相应位置进行预热。

模拟胃液（胃蛋白酶活性 1 550 U/mL）：称取 387.5 kU 的胃蛋白酶（Sigma，P7000）溶解于 250 mL pH 2.0 的盐酸缓冲溶液中（41 ℃下标定 pH），缓慢搅拌至溶解（临用前配制）。

模拟小肠液（淀粉酶活性 401.46 U/mL，胰蛋白酶活性 49.28 U/mL，糜蛋白酶活性 11.31 U/mL）：称取 110.40 kU 淀粉酶（Sigma，A3306）、13.55 kU 胰蛋白酶（Amersco，0785）、3.11 kU 糜蛋白酶（Amersco，0164）溶解于 25 mL 去离子水中，缓慢搅拌直至溶解（临用前配制）。

表 3 胃缓冲液及小肠缓冲液组成

Table 3 Composition of gastric buffer and intestine buffers

项目 Items	胃缓冲液 Gastric buffer	小肠缓冲液 intestine buffers	
		小肠前段 Anterior segment of intestine	小肠后段 Posterior segment of intestine
氯化钠 NaCl/g	2.17	11.13	10.03

氯化钾 KCl/g	1.57	3.09	2.79
磷酸氢二钠 Na_2HPO_4/g	—	9.35	48.77
磷酸二氢钠 NaH_2PO_4/g	—	40.09	6.77
青霉素 Penicillin/万 U	—	160	160

1.2.2 操作步骤

称取 2.000 0 g 饲粮样品（精确到 0.000 2 g），加入 20 mL 模拟胃液，无损转移到装有透析袋（截留分子质量为 14 000 u）的模拟消化管中，用胶塞塞严，并安装于预热好的 SDS−II 上，胃阶段模拟消化参数温度为 41 ℃，消化时间为 4 h。在胃阶段模拟消化结束后，将 2 mL 模拟小肠液加入小肠消化液储备室，继续进行小肠阶段的模拟消化，其消化参数温度为 41 ℃，小肠前段和小肠后段消化时间均为 7.5 h。

消化过程结束后，将透析袋内未消化残渣无损转移到已知绝干重量的培养皿中，置于 65 ℃烘箱中 8~10 h 后，再将烘箱调至 105 ℃恒重 4 h，记录重量。

将培养皿中的消化残渣全部刮下，取 0.3 g 残渣测定残渣粗蛋白质含量，取 0.1 g 残渣测定残渣淀粉含量，剩余残渣称重后转移到已知绝干重量的玻璃砂芯坩埚中，用无水乙醇进行 3 次脱脂后，待无水乙醇完全挥发，置于 105 ℃烘箱恒重，记录重量。

在进行仿生消化试验时，同步测定饲粮样品的干物质、粗蛋白质和淀粉含量及总能。

1.2.3 计算公式

数据计算公式如下：

IVDMD(%)=$100\times(M_1-M_2)/M_1$；

IVGED(%)=$100\times(GE_1-GE_2)/GE_1$；

IVACPD(%)=$100\times(CP_1-CP_2)/CP_1$；

IVSCPD(%)=$100\times(CP_1-CP_2+CP_0)/CP_1$；

IVSTD（%）=$100\times(ST_1-ST_2)/ST_1$；

IVME(MJ/kg)=$(GE_1-GE_2)/(GE_1\times1\ 000)$。

式中：M_1为上样饲粮干物质重量（g）；M_2为未消化残渣干物质重量（g）；GE_1为上样饲粮总能（J）；GE_2为未消化残渣总能（J）；CP_0为粗蛋白质内源损失量（g）；CP_1为上样饲粮粗蛋白质重量（g）；CP_2为未消化残渣粗蛋白质重量（g）；ST_1为上样饲粮淀粉重量（g）；ST_2为未消化残渣淀粉质量（g）。

1.3 数据统计分析

试验数据采用 SAS 9.2 的 MEANS 模块对基本统计量进行分析，用 GLM 模块对数据进行双因素方差分析，当存在交互作用（P<0.05）时，对平均值进行 Turkey 法多重比较，结果以“平均值±标准差”表示，P<0.05 为差异显著，0.05<P<0.10 作趋势分析。

2 结果与分析

2.1 饲粮营养水平和淀粉酶添加剂量对肉鸡饲粮 IVDMD、IVGED 和 IVME 的影响

由表 4 可知，饲粮营养水平和淀粉酶添加剂量对肉鸡饲粮 IVDMD、IVGED 和 IVME 存在交互作用（P<0.01）。在饲粮中添加不同剂量的淀粉酶后，胃阶段的 IVDMD 和 IVGED 均显著增加（P<0.05），1~21 日龄饲粮的 IVDMD 和 IVGED 显著高于 22~42 日龄饲粮（P<0.01）；1 840 U/g 淀粉酶组全消化道的 IVDMD 和 IVGED 显著低于其他组（P<0.05），22~42 日龄饲粮全消化道 IVDMD 和 IVGED 显著高于 1~21 日龄饲粮（P<0.05）；18 400 U/g 淀粉酶组饲粮的 IVME 显著高于其他组（P<0.05），22~42 日龄饲粮的 IVME 显著高于 1~21 日龄饲粮（P<0.05）。

在 1~21 日龄饲粮中，9 200 和 18 400 U/g 淀粉酶组胃阶段、全消化道的 IVDMD 和胃阶段的 IVGED 均显著高于对照组和 1 840 U/g 淀粉酶组（P<0.05）；9 200 和 18 400 U/g 淀粉酶组的 IVME 显著高于对照组（P<0.05），分别较对照组提高了 0.14 和 0.18 MJ/kg。

在 22~42 日龄饲粮中，1 840、9 200 和 18 400 U/g 淀粉酶组胃阶段的 IVDMD 和 IVGED 均显著高于对照组（P<0.05）；与对照组相比，1 840 U/g 淀粉酶组全消化道 IVDMD 和 IVGED 均显著降低（P<0.05），9 200 U/g 淀粉酶组全消化道 IVDMD 显著降低

（$P<0.05$）；1 840 U/g 淀粉酶组的 IVME 显著低于对照组（$P<0.05$），9 200 和 18 400 U/g 淀粉酶组与对照组差异不显著（$P>0.05$）。

表 4 饲粮营养水平和淀粉酶添加剂量对肉鸡饲粮 IVDMD 和 IVGED 以及 IVME 的影响

Table 4 Effects of dietary nutrient level and amylase additional dose on IVDMD, IVGED and IVME of diets for broilers

饲粮营养水平 Dietary nutrient level	淀粉酶添加剂量 Amylase additional dose/（U/g）	体外干物质消化率 IVDMD/%		体外总能消化率 IVGED/%		体外代谢能 IVME/（MJ/kg）
		胃阶段 Gastric stage	全消化道 Total digestive tract	胃阶段 Gastric stage	全消化道 Total digestive tract	
1~21 日龄 1 to 21 days of age	0	30.96±0.10^{b}	75.73±0.41^{c}	32.08±0.42^{bc}	78.72±0.37^{b}	15.19±0.07^{d}
	1 840	30.89±0.33^{b}	75.68±0.04^{c}	32.13±0.40^{bc}	78.84±0.13^{b}	15.22±0.03^{d}
	9 200	32.20±0.14^{a}	76.40±0.53^{b}	33.35±0.33^{a}	79.25±0.53^{b}	15.33±0.10^{c}
	18 400	31.89±0.45^{a}	76.29±0.45^{b}	33.36±0.44^{a}	79.19±0.38^{b}	15.37±0.07^{c}
22~42 日龄 22 to 42 days of age	0	26.75±0.23^{e}	77.32±0.31^{a}	29.99±0.41^{d}	80.24±0.49^{a}	15.66±0.10^{ab}
	1 840	28.87±0.70^{d}	75.23±0.51^{c}	31.68±0.48^{c}	77.34±0.70^{c}	15.17±0.14^{d}
	9 200	30.00±0.29^{c}	76.37±0.30^{b}	32.42±0.63^{bc}	79.56±0.28^{ab}	15.57±0.05^{b}
	18 400	29.86±0.45^{c}	76.99±0.22^{a}	32.69±0.45^{ab}	80.27±0.17^{a}	15.75±0.03^{a}
淀粉酶添加剂量 Amylase additional dose/（U/g）						
0		28.85^{c}	76.53^{a}	31.04^{c}	79.48^{a}	15.42^{b}
1 840		29.88^{b}	75.45^{b}	31.90^{b}	78.09^{b}	15.19^{c}
9 200		31.10^{a}	76.39^{a}	32.88^{a}	79.41^{a}	15.45^{b}
18 400		30.88^{a}	76.64^{a}	33.02^{a}	79.73^{a}	15.56^{a}
饲粮营养水平 Dietary nutrient level						
1~21 日龄 1~21 days of age		31.49^{a}	76.02^{b}	32.73^{a}	79.00^{b}	15.28^{b}
22~42 日龄 22~42 days of age		28.87^{b}	76.48^{a}	31.69^{b}	79.35^{a}	15.54^{a}
P 值 *P*-value						
淀粉酶添加剂量 Amylase additional dose		<0.01	<0.01	<0.01	0.02	<0.01

饲粮营养水平 Dietary nutrient level	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
饲粮营养水平×淀粉酶添加剂量 Dietary nutrient level×amylase additional dose	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

相同因素下，同行数据肩标相同字母或无字母表示差异不显著（P>0.05），不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。下表同。

Under the same factor, values in the same row with the same letter or no letter superscripts mean no significant difference (P>0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05). The same as below.

2.2 饲粮营养水平和淀粉酶添加剂量对肉鸡饲粮 IVACPD、IVSCPD 和 IVSTD 的影响

由表 5 可知，饲粮营养水平和淀粉酶添加剂量对肉鸡饲粮 IVACPD、IVSCPD 和 IVSTD 存在交互作用（$P<0.01$）。1 840 和 9 200 U/g 淀粉酶组的全消化道 IVACPD、IVSCPD 显著高于对照组（$P<0.05$），且 22~42 日龄饲粮的全消化道 IVACPD、IVSCPD 显著高于 1~21 日龄饲粮（$P<0.05$）；8 种饲粮的全消化道 IVSTD 均在 99.40%以上，9 200 和 18 400 U/g 淀粉酶组的全消化道 IVSTD 显著低于对照组（$P<0.05$），1~21 日龄饲粮的全消化道 IVSTD 显著高于 22~42 日龄饲粮（$P<0.05$）。

在 1~21 日龄饲粮中，9 200 和 18 400 U/g 淀粉酶组的全消化道 IVACPD、IVSCPD 均显著高于对照组（$P<0.05$）；9 200 和 18 400 U/g 淀粉酶组的全消化道 IVSTD 低于对照组（$P<0.01$）。

在 22~42 日龄饲粮中，18 400 U/g 淀粉酶组的全消化道 IVACPD、IVSCPD 均显著低于其他组（$P<0.05$），1 840 和 9 200 U/g 淀粉酶组上述指标与对照组相比无显著差异（$P>0.05$）；各淀粉酶添加组的全消化道 IVSTD 与对照组相比无显著差异（$P>0.05$）。

表 5 饲粮营养水平和淀粉酶添加剂量对肉鸡饲粮 IVACPD、IVSCPD 和 IVSTD 的影响

Table 5 Effects of dietary nutrient level and amylase additional dose on IVACPD, IVSCPD and IVSTD of diets for broilers %

饲粮营养水平 Dietary nutrient level	淀粉酶添加剂量 Amylase additional dose/（U/g）	全消化道体外表观粗蛋白质消化率 IVACPD in total digestive tract	全消化道体外标准化粗蛋白质消化率 IVSCPD in total digestive tract	全消化道体外淀粉消化率 IVSTD in total digestive tract
1~21 日龄 1 to 21 days of age	0	65.48±2.51^{e}	67.46±2.51^{d}	99.65±0.05^{a}
	1 840	67.08±0.50^{e}	69.11±0.50^{d}	99.64±0.00^{a}
	9 200	71.73±1.04^{cd}	73.75±1.04^{bc}	99.47±0.08^{b}
	18 400	71.56±1.92^{cd}	73.59±1.92^{bc}	99.40±0.13^{b}
22~42 日龄 22 to 42 days of age	0	74.41±0.84^{ab}	76.51±0.84^{ab}	99.49±0.04^{b}
	1 840	75.45±1.14^{ab}	77.55±1.14^{a}	99.49±0.06^{b}
	9 200	73.18±1.59^{bc}	75.29±1.59^{ab}	99.43±0.10^{b}
	18 400	69.59±0.89^{d}	71.75±0.89^{c}	99.53±0.08^{ab}
淀粉酶添加剂量 Amylase additional dose/（U/g）				
0		69.95^{c}	71.99^{c}	99.57^{a}
1 840		71.27^{ab}	73.33^{ab}	99.56^{a}
9 200		72.45^{a}	74.52^{a}	99.45^{b}
18 400		70.58^{bc}	72.67^{bc}	99.46^{b}
饲粮营养水平 Dietary nutrient level				
1~21 日龄 1~21 days of age		68.96^{b}	70.98^{b}	99.54^{a}
22~42 日龄 22~42 days of age		73.16^{a}	75.28^{a}	99.48^{b}
P 值 *P*-value				
淀粉酶添加剂量 Amylase additional dose		<0.01	<0.01	0.03
饲粮营养水平 Dietary nutrient level		<0.01	<0.01	<0.01
饲粮营养水平×淀粉酶添加剂量 Dietary nutrient level×amylase additional dose		<0.01	<0.01	<0.01

3 讨 论

外源淀粉酶的作用效果受到淀粉酶来源、添加剂量和饲粮营养水平等因素的影响。Gracia 等[3]研究发现，添加单一α-淀粉酶可提高玉米-豆粕饲粮有机物和淀粉的消化率以及代谢能，但对粗蛋白质和粗脂肪的消化率没有显著影响。单一α-淀粉酶也可提高肉仔鸡的日增重和饲料转化率[4-5]。但 Mahagna 等[7]的研究显示α-淀粉酶对肉仔鸡前期（1～14 日龄）饲粮的淀粉消化率没有促进作用，Kaczmarek 等[6]也发现添加单一α-淀粉酶对玉米-豆粕型饲粮淀粉和粗蛋白质的消化率以及代谢能没有显著影响，对肉仔鸡的生产性能没有正效应。本试验利用 SDS−II 分析了饲粮营养水平和淀粉酶添加剂量对肉鸡饲粮体外养分消化率和代谢能的影响，为快速准确评价和使用饲用酶制剂提供参考。

3.1 饲粮营养水平和淀粉酶添加剂量对肉鸡饲粮体外养分消化率的影响

外源酶制剂对肉鸡养分消化的影响作用与饲粮营养水平密切相关[17-18]，但单一外源淀粉酶与饲粮营养水平对肉鸡饲粮养分消化率的影响报道很少。本研究中 1~21 日龄饲粮为高蛋白质、低能量饲粮，22~42 日龄饲粮为低蛋白质、高能量饲粮，研究结果表明饲粮营养水平与淀粉酶添加剂量对肉鸡饲粮体外养分消化率存在交互作用，外源淀粉酶对 1~21 日龄饲粮营养水平下饲粮体外养分消化率的影响更明显，饲粮能量水平越低，外源淀粉酶的作用越明显，相关动物试验也得到相似的结果。在降低代谢能 836 kJ/kg 的肉仔鸡饲粮中，复合酶制剂（含有α−淀粉酶）对 18~21 日龄饲粮全消化道干物质、粗蛋白质及能量消化率提升效果比 42 日龄饲粮更明显[17]。黄学琴[18]也发现酶制剂提高了不同营养水平的肉鸭饲粮的粗蛋白质利用率，饲粮代谢能水平越低，外源酶制剂对粗蛋白质消化率的作用越明显。

3.2 外源淀粉酶对肉鸡饲粮 IVCPD 和 IVSTD 的影响

由于幼雏鸡消化系统发育不成熟，自身分泌的消化酶不足以消化吸收饲料中的养分，影响后续的生长发育，有必要添加外源酶来补充内源酶的不足并促进肠道的早期发育。Gracia 等[3]研究发现，在饲粮中添加外源淀粉酶后，肉仔鸡在 7 日龄时提高了粗蛋白质消

化率和淀粉消化率，到 28 日龄时淀粉消化率仍高于对照组，但降低了粗蛋白质的消化率且差异不显著。本试验通过 SDS−Ⅱ分别模拟肉仔鸡 1~21 日龄和 22~42 日龄饲粮的体内消化过程，当添加 9 200 和 18 400 U/g 淀粉酶时显著提高了 1~21 日龄饲粮的 IVACPD 和 IVSCPD，但对 22~42 日龄饲粮的 IVACPD 和 IVSCPD 提升效果不显著，这与前人采用动物试验法[17]研究外源淀粉酶影响粗蛋白质消化率的结果相似，可能是外源淀粉酶与内源蛋白酶互作的结果。蒋正宇等[19]在 21 日龄肉仔鸡玉米−豆粕型饲粮中分别添加 250、750、2 250 mg/kg 微生物α−淀粉酶，均不同程度提高了肉仔鸡前肠内容物中总蛋白酶和胰蛋白酶活性。本试验中粗蛋白质消化率的提高可能是由于外源淀粉酶增加了内源酶的活性，从而改善了饲粮养分消化率，但也有研究表明粗蛋白质消化率的提高可能是由于外源淀粉酶通过分解淀粉，减少了淀粉大分子空间占位对蛋白质消化的阻隔作用，从而促进了蛋白质的消化吸收[20]。

尽管添加 9 200 和 18 400 U/g 淀粉酶在统计学上显著降低了 1~21 日龄饲粮的全肠道 IVSTD，但外源淀粉酶对淀粉消化率的提升作用甚微，因为在体外模拟消化条件下，玉米−豆粕型饲粮中的淀粉几乎完全降解，8 种饲粮的全肠道 IVSTD 均在 99.40%以上。淀粉消化率与动物自身淀粉酶分泌量相关，肉仔鸡在 4 日龄时自身淀粉酶的分泌量较低，但随日龄的增长其分泌量随之增加，然后趋于稳定[21]。

3.3 外源淀粉酶对肉鸡饲粮 IVDMD 和 IVGED 的影响

由于胃内环境呈酸性，容易破坏外源酶活性，Ao 等[22]通过模拟禽类不同消化道的 pH，对β−葡聚糖酶、木聚糖酶、淀粉酶、α−半乳糖苷酶和蛋白酶进行活性测定，结果表明禽类消化道的 pH 可能是外源酶活性的最大限制性因素。在本试验条件下，添加 9 200 和 18 400 U/g 淀粉酶均提高了 1~21 日龄和 22~42 日龄饲粮胃阶段的 IVDMD，说明试验中所用的外源淀粉酶具有耐胃酸性，并且提高了胃阶段的养分消化率。相似的研究也表明，将含有α−淀粉酶（活性≥8.5×10^6 U/t）的复合酶添加到玉米和豆粕等原料中，测得玉米的

IVDMD 和 IVGED 分别提高了 2.07%和 2.82%，豆粕的 IVDMD 和 IVGED 分别提高了 5.00%和 0.26%[23]。本试验结果显示，添加外源淀粉酶后，肉鸡饲粮的 IVDMD、IVGED 和 IVME 得到提高，说明在体外消化试验中外源淀粉酶的添加能够提高饲粮中的可消化养分（如粗蛋白质）。

研究认为少量添加酶制剂能增强内源酶作用，中等剂量的添加对内源酶有降解作用，高剂量添加外源酶则又显示正效应[24]，外源酶与内源酶的作用效果取决于酶的来源、作用底物、添加量等因素，其作用机理还有待进一步研究。

4 结 论

在本试验条件下：

①外源淀粉酶的添加提高了肉鸡饲粮胃阶段的 IVDMD、IVDGE，1 840 和 9 200 U/g 外源淀粉酶提高了肉鸡饲粮的 IVACPD 和 IVSCPD，18 400 U/g 淀粉酶提高了肉鸡饲粮的 IVME；

②玉米-豆粕型饲粮中淀粉几乎完全降解，外源淀粉酶对 IVSTD 的影响可以忽略；

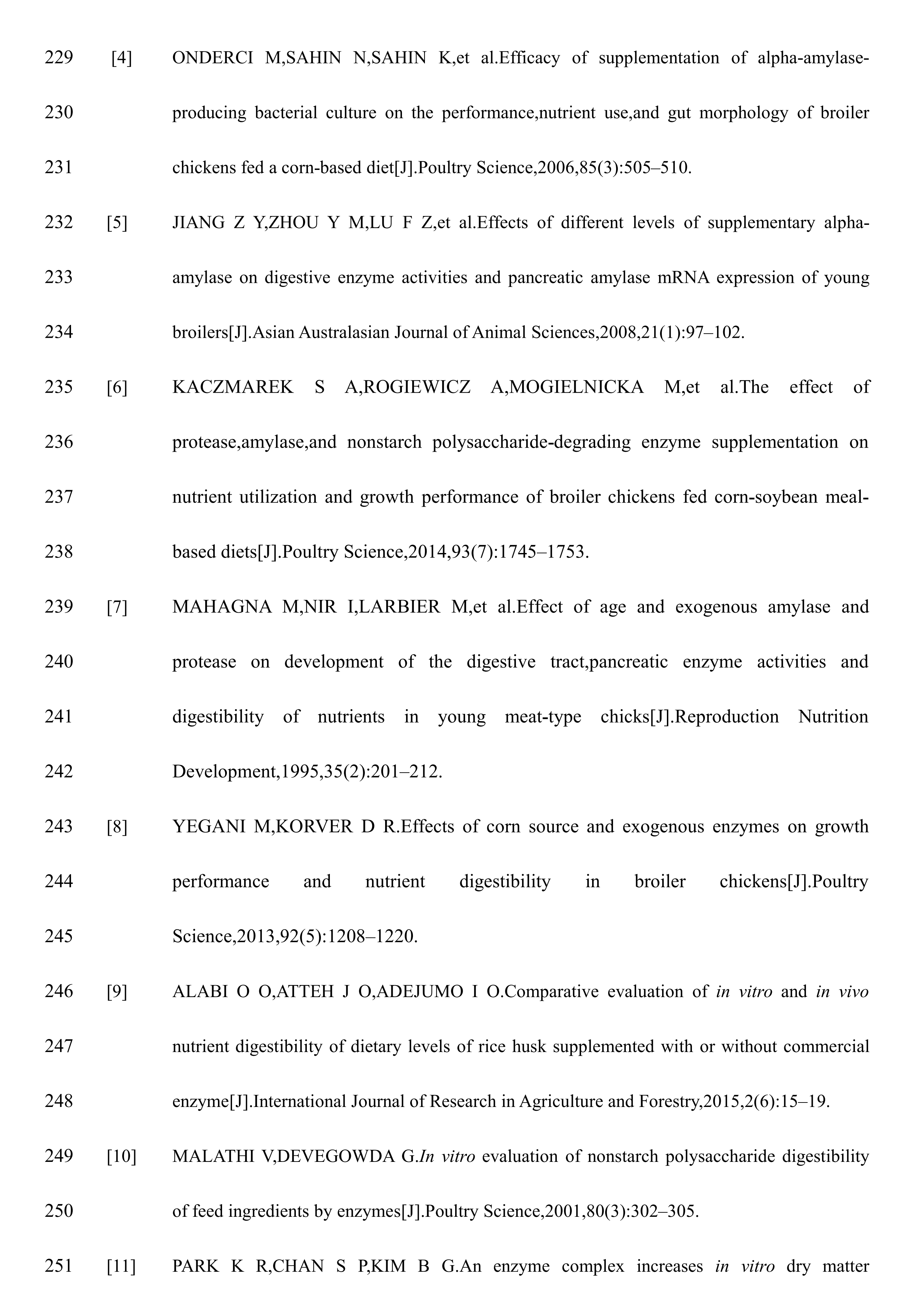
③饲粮营养水平和外源淀粉酶添加剂量对肉鸡饲粮体外养分消化率和代谢能存在交互作用，22~42 日龄饲粮的体外养分消化率和代谢能均高于 1~21 日龄饲粮。

参考文献：

[1] 张宏福,赵峰,张子仪.仿生消化法评定猪饲料生物学效价的研究进展[C]//2010 中国畜牧兽医学会动物营养学分会第六次全国饲料营养学术研讨会论文集.杨凌:中国畜牧兽医学会,2010:5–9.

[2] 陈亮,张宏福,赵峰.体外透析法评定单胃动物饲料养分生物学效价[J].饲料工业,2013(19):58–61.

[3] GRACIA M I,ARANIBAR M J,LAZARO R,et al.Alpha-amylase supplementation of broiler diets based on corn[J].Poultry Science,2003,82(3):436–442.



[4] ONDERCI M,SAHIN N,SAHIN K,et al.Efficacy of supplementation of alpha-amylase-producing bacterial culture on the performance,nutrient use,and gut morphology of broiler chickens fed a corn-based diet[J].Poultry Science,2006,85(3):505–510.

[5] JIANG Z Y,ZHOU Y M,LU F Z,et al.Effects of different levels of supplementary alpha-amylase on digestive enzyme activities and pancreatic amylase mRNA expression of young broilers[J].Asian Australasian Journal of Animal Sciences,2008,21(1):97–102.

[6] KACZMAREK S A,ROGIEWICZ A,MOGIELNICKA M,et al.The effect of protease,amylase,and nonstarch polysaccharide-degrading enzyme supplementation on nutrient utilization and growth performance of broiler chickens fed corn-soybean meal-based diets[J].Poultry Science,2014,93(7):1745–1753.

[7] MAHAGNA M,NIR I,LARBIER M,et al.Effect of age and exogenous amylase and protease on development of the digestive tract,pancreatic enzyme activities and digestibility of nutrients in young meat-type chicks[J].Reproduction Nutrition Development,1995,35(2):201–212.

[8] YEGANI M,KORVER D R.Effects of corn source and exogenous enzymes on growth performance and nutrient digestibility in broiler chickens[J].Poultry Science,2013,92(5):1208–1220.

[9] ALABI O O,ATTEH J O,ADEJUMO I O.Comparative evaluation of *in vitro* and *in vivo* nutrient digestibility of dietary levels of rice husk supplemented with or without commercial enzyme[J].International Journal of Research in Agriculture and Forestry,2015,2(6):15–19.

[10] MALATHI V,DEVEGOWDA G.*In vitro* evaluation of nonstarch polysaccharide digestibility of feed ingredients by enzymes[J].Poultry Science,2001,80(3):302–305.

[11] PARK K R,CHAN S P,KIM B G.An enzyme complex increases *in vitro* dry matter

digestibility of corn and wheat in pigs[J].SpringerPlus,2016,5:598.

[12] 张立兰,陈亮,钟儒清,等.外源蛋白酶对肉鸡饲粮体外干物质消化率和酶水解物能值的影响[J].中国农业科学,2017,50(7):1326–1333.

[13] 张立兰,高理想,陈亮,等.体外消化法优化生长猪玉米-豆粕-DDGS 饲粮和小麦-豆粕饲粮非淀粉多糖酶谱的研究[J].畜牧兽医学报,2017,48(8):1468–1480.

[14] 中华人民共和国农业部.NY/T 33—2004 鸡饲养标准[S].北京:中国农业出版社,2004.

[15] NRC.Nutrient requirements of poultry[S].9th ed.Washington,D.C.:National Academy Press,1994:27.

[16] 赵峰,张宏福,张子仪.单胃动物仿生消化系统操作手册[M].2 版.北京:中国农业科学院,2011.

[17] 刘永超,刘宁,石学刚.低能日粮添加木聚糖酶或复合酶对肉鸡生产性能和养分消化率的影响[J].饲料工业,2011,32(16):39–42.

[18] 黄学琴.复合酶制剂对肉鸭生产性能、养分利用率及钙磷代谢的影响[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学,2013.

[19] 蒋正宇,周岩民,王恬.外源α-淀粉酶对 21 日龄肉鸡消化器官发育、肠道内源酶活性的影响[J].畜牧兽医学报,2007,38(7):672–677.

[20] 张仕琦,热合木塔依・吾布力卡斯木,陈跃平,等.低温α-淀粉酶对青脚麻鸡生长性能和消化功能的影响[J].粮食与饲料工业,2016,12(8):57–60.

[21] NOY Y,SKLAN D.Digestion and absorption in the young chick[J].Poultry Science,1995,74(2):366–373.

[22] AO T,CANTOR A H,PESCATORE A J,et al.*In vitro* evaluation of feed-grade enzyme activity at pH levels simulating various parts of the avian digestive tract[J].Animal Feed Science and Technology,2008,140(3/4):462–468.

[23] 刘慧龙.复合酶对几种饲料原料养分消化率的影响及其在猪饲料中的应用[D].硕士学位论文.沈阳:沈阳农业大学,2016.

[24] 蒋正宇.外源α-淀粉酶对肉鸡消化器官发育、内源酶活性的影响及后续效应的研究[D].硕士学位论文.南京:南京农业大学,2006.

Effects of Exogenous Amylase on *in Vitro* Nutrient Digestibility and Metabolic Energy of Corn-Soybean Meal Type Diets for Broilers

ZHANG Xian[1,2] ZHANG Leying[2] ZHANG Lilan[1] CHEN Liang[1*] TANG Xiangfang[1] ZHANG Hongfu[1]

(1. State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193*, China*; 2. *School of Life and food Engineering, Hebei University of Engineering, Handan* 056000*, China*)

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects of exogenous amylase on *in vitro* nutrient digestibility and metabolic energy of corn-soybean meal type diets for broilers using a computer-controlled simulated digestion system (SDS-Ⅱ), in order to provide a reference of the establishing *in vitro* method for efficacy evaluation of exogenous enzyme. A 2×4 factorial arrangement design was adopted in the present study. Two corn-soybean meal type diets were formulated to meet the nutrient requirements of broilers at 1 to 21 and 22 to 42 days of age according to *Feeding Standard of Chicken* of China (NY/T 33—2004) and NRC (1994), respectively. Six amylase supplementation diets were formulated by adding 1 840, 9 200 and 18 400 U/g exogenous amylase into the two basal diets, respectively. The two basal diets without exogenous amylase were used as control. The *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD), *in vitro* apparent crude protein digestibility (IVACPD), *in vitro* standardized crude protein digestibility (IVSCPD), *in vitro* starch digestibility (IVSTD), *in vitro* gross energy digestibility (IVGED) and *in vitro* metabolic energy (IVME) of the 8 diets were determined by SDS-Ⅱ. Each diet contained 5 replicates with 1 digestion tube per replicate. The results showed as follows: 1) compared with the control group, the IVDMD and IVGED in gastric stage of diets in 1 840, 9 200 and 18 400 U/g amylase groups were significantly increased ($P<0.05$). The IVME of diets in 18 400 U/g amylase

*Corresponding author, assistant professor, E-mail: chenliang01@caas.cn (责任编辑 菅景颖)

group was significantly higher than that in the other groups (*P*<0.05). The IVDMD and IVGED in total digestive tract and IVME of the 22 to 42 days of age diet were significantly higher than those in the 22 to 42 days of age diet (*P*<0.05). 2) The IVACPD and IVSCPD in total digestive tract of diets in 1 840 and 9 200 U/g amylase groups were significantly higher than those in the control group (*P*<0.05). The IVACPD and IVSCPD in total digestive tract of diets in the 22 to 42 days of age diet were significantly higher than those in the 1 to 21 days of age diet (*P*<0.05). 3) The IVSTD in total digestive tract of 8 diets were all more than 99.40 %, and it in 9 200 and 18 400 U/g amylase groups was significantly lower than that in the control group (*P*<0.05). The IVSTD in total digestive tract in the 22 to 42 days of age diet was significantly higher than that in the 1 to 21 days of age diet (*P*<0.05). 4) There were interaction effects between dietary nutrient level and amylase additional dose on the IVDMD, IVGED, IVACPD, IVSCPD, IVSTD and IVME were observed in the (*P*<0.01). It is concluded that the addition of exogenous amylase increases the IVDMD and IVDGE in gastric stage, the addition of 9 200 U/g amylase increases the IVACPD and IVSCPD, and the addition of 18 400 U/g amylase increases the IVME of diets for broilers. The starch in the corn-soybean meal type diets was almost completely degraded and no effect of amylase on the IVSTD. There are interaction effects of dietary nutrient level and amylase additional dose on the *in vitro* nutrient digestibility and metabolic energy. The *in vitro* nutrient digestibility and metabolic energy in the 1 to 21 days of age diet are higher than those in the 22 to 42 days of age diet.

Key words: exogenous amylase; SDS-Ⅱ; nutrient; digestibility; metabolic energy